

ОГЛЯДИ

УДК 577.3

Na⁺,K⁺-АТФ-аза, ЕНДОГЕННІ КАРДІОСТЕРОЇДИ ТА ЇХНЯ ТРАНСДУКТОРНА РОЛЬ

© О. В. ЦИМБАЛЮК¹, С. О. КОСТЕРІН²

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;

²Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;

e-mail: otsimbal@univ.kiev.ua

Na⁺,K⁺-АТФ-аза – протеїновий комплекс плазматичної мембрани, який виконує подвійну роль: по-перше, підтримує гомеостаз іонів Na і K, а також трансмембранний градієнт потенціалу і, по-друге, є трансдуктором сигналів і регулятором експресії багатьох ключових генів. Сигнальними молекулами слугують ендogenous кардіотонічні стероїди, які синтезуються в наднирникових залозах та гіпоталамусі. В огляді розглядаються сучасні уявлення про механізми здійснення сигнальної функції Na⁺,K⁺-АТФ-ази та їх зв'язок із регуляцією клітинних функцій, апоптозу, а також патологіями серцево-судинної системи і водно-сольового гомеостазу.

Ключові слова: Na⁺,K⁺-АТФ-аза, ендogenous кардіостероїди, сигналосома, трансдукція сигналів.

В останні роки, переважно завдяки дослідженням під керівництвом Z. Хіе, розвинулася концепція, згідно з якою Na⁺,K⁺-АТФ-аза, крім загальновідомої ролі у підтриманні мембранного потенціалу шляхом спрямованого переносу трьох іонів натрію (назовні) і двох іонів калію (в клітину) крізь плазматичну мембрану [1], також може бути трансдуктором сигналів [2]. Сигнальними молекулами, які забезпечують активацію цієї функції АТФ-ази, є ендogenous уабаїноподібні гормони.

Структура натрієвої помпи. Na⁺,K⁺-АТФ-аза (натрієва помпа; 3.6.3.9) – трансмембранна структура, яка складається із двох нековалентно зв'язаних субодиниць α і β, а в деяких тканинах є ще і регуляторна γ-субодиниця. У клітинах ссавців експресуються чотири ізоформи α-субодиниці та три β-субодиниці.

Найбільша у комплексі Na⁺,K⁺-АТФ-ази – α-субодиниця (близько 112 кДа). Молекула субодиниці 10 разів перетинає плазматичну мембрану та формує десять α-спіральных сегментів, при цьому обидва кінці поліпептидного ланцюга містяться у внутрішньоклітинному просторі. Виділяють три функціональні домени в молекулі α-субодиниці: А-домен (активаційний), Р-домен (фосфориліаційний) та N-домен (нуклеотидзв'язуючий або нуклеотидний).

У процесі формування функціональної конформації Na⁺,K⁺-АТФ-ази, α-спіральні сегменти структуруються навколо трьох центральних 4-, 5- та 6-го. Внутрішньоклітинна петля між 2- і 3-м сегментами та N-кінець молекули формують активаційний домен, що містить ділянку TGES, яка бере участь на етапі дефосфорилування. Інша важлива внутрішньоклітинна петля (між 4- і 5-м трансмембранними фрагментами) формує два домени: фосфориліаційний та нуклеотидний. Фосфориліаційний домен утворюється проксимальною та дистальною частинами петлі. Він містить амінокислотну послідовність DKGTG, амінокислотний залишок аспарагінової кислоти в якій (Asp-376, а за іншими даними Asp-369) залучений до обміну γ-фосфату АТФ. Нуклеотидний домен сформований головною частиною другої внутрішньоклітинної петлі; він утворює АТФ-зв'язуючий сайт [3]. Частина α-субодиниці, через яку здійснюється транспорт іонів, утворюють трансмембранні сегменти 1-, 2-, 4-, 6-й та, ймовірно, 5-й [4].

Серцеві глікозиди (зокрема, дигоксин і уабаїн), які є оборотними інгібіторами Na⁺,K⁺-АТФ-ази, взаємодіють із сайтом, сформованим позаклітинною частиною α-субодиниці. Найвищу спорідненість до уабаїну має ензим у фосфорильованому стані (конформація E2P). Кардіотонічні стероїди взаємодіють із сай-

том, який переважно сформований трьома позаклітинними петлями (між трансмембранними сегментами 1- і 2-м, 5- і 6-м та 7- і 8-м) і самими трансмембранними сегментами. Він має консервативну структуру в ряду організмів від дрозофіли і земноводних до гризунів, свавців та людини. Найбільш консервативна частина сайту міститься в N-кінцевій області і формується петлею між 1- і 2-м трансмембранними сегментами. У дослідженнях [5, 6] було виявлено зв'язок між амінокислотним складом цієї ділянки (особливо в позиціях 111 і 122) та чутливістю ізоформ у різних видів тварин до кардіотонічних стероїдів. Зокрема, для α -субодиниці вівці було доведено, що висока чутливість (порівняно з такою для α_1 -субодиниці щура) пов'язана із двома амінокислотними залишками – Gln-111 та Asn-122 (у молекулі α_1 щура вони відповідно замінені на аргінін та аспарагінат) [5]. Також і убаїнчутлива α_2 -субодиниця щура в положенні 111 містить Gln і в положенні 122 – Asn [6]. Крім того, встановлено, що мутації сусідніх залишків першої позаклітинної петлі (Asp-121, Cys-104, Tyr-108) спричиняють зниження чутливості до убаїну [7–10]. Показано, що залишки Cys-104, Tyr-108, Glu-111 знаходяться поблизу сайту зв'язування цукру молекули кардіостероїдів [10], тоді як за зв'язування стероїдної групи, ймовірно, відповідають амінокислотні залишки Phe-783, Thr-797 та Asp-804 (остання – опосередковано) петлі між трансмембранними сегментами 5- і 6-м [11]. Можливо, петля між трансмембранними фрагментами 3- і 4-м, також задіяна у формуванні сайту зв'язування кардіотонічних стероїдів (КТС). На користь такого твердження свідчать дослідження функціональних наслідків точкових мутацій амінокислотних залишків Cys-113 і Tyr-317 [12]. Іншими важливими амінокислотними залишками є Glu-334 і Glu-960 (α -субодиниця електричного органу Torpedo); їхня зміна на аланін призводить до підвищення чутливості натрієвої помпи до убаїну [13]. Амінокислотні залишки, розміщені у колі трансмембранних сегментів 5-, 6- і 7-го, так само забезпечують чутливість α -субодиниці до убаїну; це – Phe-786, Leu-793 (петля між 5- і 6-м), Thr-797, Phe-863, Arg-880 (петля між 7- і 8-м) [9].

Нещодавно була запропонована альтернативна модель, яка передбачає розташування сайту зв'язування кардіостероїдів у площині плазматичної мембрани [14]. Так, рентгеноструктурний аналіз і молекулярне реконструювання (за основу було взято α -субодиницю

АТР-ази акули) свідчать, що молекула убаїну тісно «вклинюється» між трансмембранними сегментами, частково розкручуючи спіраль сегмента 4. Передбачається, що за цих умов головними у формуванні сайту зв'язування глікозиду є трансмембранні сегменти 5 та 6.

Варто відзначити, що β - і γ -субодиниці Na^+, K^+ -АТР-ази також беруть участь в утворенні сайту зв'язування кардіотонічних стероїдів. Так, ектодомен β -субодиниці внаслідок специфічної взаємодії з α -субодиницею, посилює спорідненість ензиму до іонів K^+ , а також впливає на формування убаїнзв'язуючого сайту [15]. Існують дані, які вказують на те, що γ -субодиниця може бути задіяна у формуванні убаїнзв'язуючого центру натрієвої помпи [16].

За класифікацією α -субодиниця належить до підгрупи Пс родини Р-АТР-аз, визначною рисою якої є транз'єнтне формування фосфорильованого залишку аспартату у процесі каталітичного циклу [3]. Родину Р-АТР-аз також називають E1-E2, оскільки ці ензими можуть перебувати у двох головних конформаційних станах E1 та E2 з різною спорідненістю до Na^+ (вища спорідненість у «дефосфорильованій» конформації E1) і K^+ (вища – у «фосфорильованій» конформації E2) та різною чутливістю до АТР і АДФ. Взаємодія із серцевими глікозидами фіксує ензим у конформації, що подібна до E2 [17].

α_1 -Субодиниця експресується у різноманітних тканинах, ізоформа α_2 характерна для серцевого, скелетних і гладеньких м'язів, легень і адипоцитів; α_3 -субодиниця виявлена в нервовій тканині, яєчниках та у кардіоміоцитах (у щурів – у процесі розвитку, а у людини – в дорослих особин); ізоформа α_4 експресується у сперматозоїдах [6]. Нокаут α_1 -субодиниці призводить до загибелі організмів у період ембріогенезу на стадії бластоциста; у разі патології ізоформи α_2 загибель настає відразу після народження через неможливість здійснювати дихання внаслідок десинхронізації нейронів дихального центру [18, 20]. За нокауту α_3 -субодиниці організм також гине під час народження, однак причини цього нез'ясовані. Ізоформа α_4 експресується виключно у сперматозоїдах, де слугує допоміжним чинником виведення H^+ , що створює передумови функціонування Na^+ , H^+ -обмінника [20].

Цікаво, що чутливість різних ізоформ (є також видова варіабельність чутливості) α -субодиниць до природного блокатора убаїну може відрізнятися на декілька порядків. Так, відносно мало чутливою є ізоформа α_1 щура,

тоді як інші ізоформи – високочутливі (константа дисоціації K_d убаїну для α_1 становить 48 тис. нМ, тоді як для α_2 , α_3 та α_4 , відповідно, 115, 1,6 та 312 нМ) [6].

За відсутності контакту з β -субодиноцею (що виконує роль протеїну-шаперона), зона якого локалізована поряд із 7- та 8-им трансмембранними сегментами, α -субодиноця нездатна здійснювати транспорт іонів. β -Субодиноця – глікопротеїн із Мм близько 35–40 кДа, який один раз перетинає плазматичну мембрану. Короткий N-кінець молекули розташований внутрішньоклітинно, а великий C-кінцевий домен міститься на позаклітинному боці і видоспецифічно глікозилується на декількох (4-9) сайтах [21–23]. Контакт між α - і β -субодиноцями відносно специфічний; з боку α -субодиноці його забезпечують 26 амінокислотних залишків позаклітинної петлі між 7- і 8-им сегментами. Як показано, за допомогою точкових мутацій α_3 -субодиноці щура, найбільш важливими амінокислотними залишками є Val-904, Tyr-898 та Cys-908 [21]. Формування контакту між α - і β -субодиноцями також впливає на здатність $\alpha\beta$ -комплексу до зв'язування з убаїном. Так, внаслідок заміни Val-904 на Arg (аналогічно у разі заміни Tyr-898 на Gln) ця взаємодія зменшувалася, а також пригнічувалася АТФ-азна активність. Комплексна заміна Tyr-898 та Cys-908 призвела до 13-кратного зниження спорідненості до убаїну в комплексі $\alpha\beta_1$ і практично не впливала на стабільність комплексу помпи з кардіостероїдом [21]. Важливим є той факт, що ці амінокислотні залишки, не задіяні безпосередньо у формуванні убаїнзв'язуючого сайту, але опосередковано мають на нього суттєвий вплив.

Найменша субодиноця Na^+, K^+ -АТФ-ази – γ -субодиноця (близько 7,3 кДа). Це невеликий протеїн, який належить до групи протеїнів FXYD. Хоча для всіх них показана тканинно- і ізоформоспецифічна взаємодія з комплексом α, β -субодиноці натрієвої помпи, що супроводжується зміною її функціональної властивості, γ -субодиноцею вважають FXYD2 [6, 18]. γ -Субодиноця регулює активність натрієвої помпи у тканинноспецифічний спосіб, знижуючи або підвищуючи її.

Убаїноподібні гормони. У середині 20-го століття з'явилися перші результати досліджень, що вказували на наявність в організмі ссавців речовин, здатних дублювати ефект рослинного убаїну, а на початку 80-х років було накопичено достатньо даних, щоб стверджувати про існування ендогенних убаїноподібних спо-

лук. Так, дослідження тварин із гіпертензією і патологіями водно-сольового обміну дозволило виявити здатність їхньої плазми крові пригнічувати Na^+, K^+ -АТФ-азу в експериментах *in vitro*, причому плазма містила речовину, яка реагувала з антитілами до дигоксину. Із використанням методу мас-спектрометрії його було ідентифіковано як убаїн (ймовірно, убагенін – аглікан убаїну), тому його було названо ендогенним убаїном [6, 24]. Пізніше було виявлено інші подібні до убаїну речовини і показано, що їхній синтез здійснюється в наднирникових залозах, а вивільнення у кров ініціюється адренкортикотропним гормоном. Іншим джерелом ендогенних КТС є гіпоталамус [24–26]. У тканинах і плазмі тварин ідентифіковано ряд КТС, які поділяють на дві групи: карденоліди (убаїн і дигоксин) та буфадієноліди (буфалін, марінобуфогенін, цінобуфоталін, ресібуфогенін, телоцінобуфогін, 19-норбуфалін і, ймовірно, інші похідні) [25, 27]. Припускають, що транспортування цих гормонів у кров'яному руслі людини здійснюють альбумін і протеїн із Мм 14,4 кДа (Fc-фрагмент IgG, $K_d = 75$ нМ) [28].

Серцеві глікозиди – похідні циклопентанпергідрофенантрону належать до класу стероїдів. Головними структурними особливостями молекули серцевих глікозидів є кільця А/В та С/Д, що приєднані в *цис*-конформації, і В/С-кільця, приєднані в *транс*-конформації, також – гідроксильна група в положенні С14 і лактон, приєднаний до С17 стероїду (рис. 1). Серцеві глікозиди в положенні 17 містять ненасичене лактонне кільце: γ -лактон із п'яти вуглецевих атомів (карденоліди) або σ -лактон із шести вуглецевих атомів (буфадієноліди). Молекула глікозидів складається із двох частин – аглікону (геніну) та вуглеводного компонента (глюкону) [25].

Різні ізоформи α -субодиноці характеризуються різною чутливістю до кардіостероїдів. Відмінності між окремими амінокислотними залишками в сайті зв'язування кардіостероїдів є передумовою селективності у взаємодії різних серцевих глікозидів з окремими ізоформами α -субодиноці [29, 30]. Так, шляхом точкових мутацій було змінено чутливість до серцевих глікозидів різних ізоформ α -субодиноці миші. Варто зазначити, що варіабельність чутливості до різних серцевих глікозидів залежить також від комбінування у функціональний комплекс ізоформ α - і β -субодиноць. Дослідження останніх років були спрямовані на визначення особливостей взаємодії молекул кардіотонічних стероїдів із натрієвою помпою.

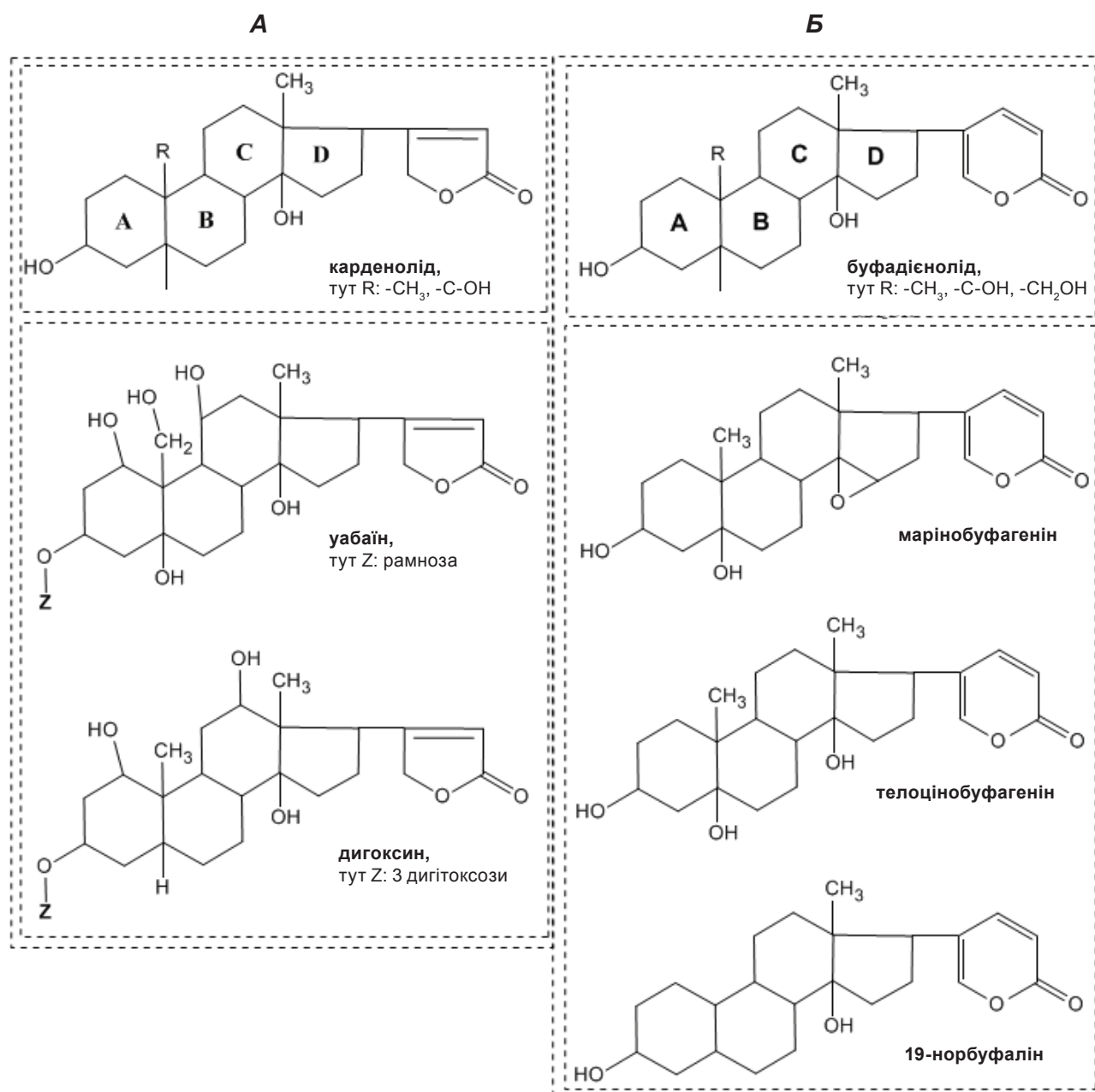


Рис. 1 Хімічна структура ендогенних кардіотонічних стероїдів: А – карденоліди (окремо подано загальний план будови і ключові представники – уабайн та дигоксин); Б – буфадієноліди (окремо подано загальний план будови і ключові представники: марінобуфагенін, телоцінобуфагенін та 19-норбуфалін)

Було встановлено, що глюкоз (знаходиться в положенні С3 молекули кардіостероїду), не задіяний в інгібуванні натрієвої помпи, однак він впливає на спорідненість і швидкість зв'язування кардіостероїду [29]. Показано, що дигоксин, дигітоксин і β -метил-дигоксин виявляють вищу спорідненість до ізоформ α_2 - та α_3 -субодиниць людини порівняно з α_1 , але така селективність відсутня для молекул аглікону (дигоксигеніну і дигітоксигеніну), що вказує

на важливість вуглеводного компонента. На відміну від цих молекул, уабайн проявляв відносну селективність до $\alpha_1 : \alpha_2$ (у 2,5 раза), не виявляючи її між $\alpha_1 : \alpha_3$ [29].

У плазмі крові людини циркулює уабайн (фізіологічні концентрації якого коливаються на рівні субнаномолярних: 10^{-11} – 10^{-10} М), ідентичний до рослинного аналога [31, 32]. Він може формувати комплекси (зокрема, у вигляді борату [33]), що значно підвищує

ефективність дії порівняно зі звичайним убаїном. У наднирникових залозах (у клітинах *zona fasciculata*) убаїн синтезується з попередників прегненолону і прогестерону. Показано, що під час блокування трилостаном ензиму 3 β -гідроксистероїд дегідрогенази, який каталізує перетворення прегненолону у прогестерон, пригнічується синтез убаїну. Цукор рамноза є структурною частиною убаїну і також синтезується у ссавців. Іншим джерелом синтезу убаїну є гіпоталамус [24, 34]. Вивільнення ендogenous убаїну регулюється симпатичною нервовою системою [25]. Дигоксин – ще один КТС, який синтезується в організмі ссавців.

Буфадієноліди, що присутні у шкірі і привушних залозах деяких амфібій, традиційно впродовж декількох сторіч використовуються у східній медицині для лікування серцевих захворювань [35]. Багатьма дослідженнями на культурах клітин доведено, що буфалін (буфалінфалін) – потужний антиапоптотичний та проліферативний чинник. Марінобуфагенін початково було виявлено в сечі людей, хворих на інфаркт міокарда, що слугує доказом зв'язку цієї сполуки і гострої серцевої патології. Також підвищеним рівнем марінобуфагеніну супроводжуються хронічна ниркова недостатність, первинний альдостеронізм та преєклампсія. Цей буфадієнолід є селективним виключно до α_1 -субодиниці ниркового епітелію і опосередковує розвиток гіпертензії, індукованої надлишковим споживанням NaCl [35, 36]. Телоцинобуфагін (редукована форма марінобуфагеніну) ідентифікується у плазмі крові людей у концентраціях, вищих за такі для марінобуфагеніну. 19-норбуфалін – інший буфадієнолід, що синтезується в організмі.

Окремі дані вказують на те, що серед ендogenous КТС є певна регуляторна «ієрархія»: ендogenous убаїн гіпоталамічного походження (або ін'єкція в гіпоталамічну область наднизьких доз убаїну) стимулює вивільнення марінобуфагеніну з наднирникових залоз [37, 38].

Фізіологічні функції КТС

Звичайні концентрації КТС у крові людини у стані спокою варіюють від $0,9 \cdot 10^{-9}$ до 10^{-10} М і в середньому становлять 0,5 нМ. Наномолярні концентрації КТС пригнічують натрієву помпу ($K_d = 10^{-8} - 10^{-9}$ М/л), тоді як субнаномолярні концентрації забезпечують регуляторну, трансдукторну функцію [25].

Внаслідок імунізації щурів антитілами антиубаїну впродовж одного місяця

було висвітлено роль КТС у нормальному функціонуванні організму [39]. Тривале зниження рівня ендogenous убаїноподібних речовин призводило до гіпертрофії наднирникових залоз, що свідчило про їхню домінуючу роль у синтезі КТС; знижувало екскрецію натрію з сечею, тобто КТС у нормі є натрійуретичними гормонами; зменшувало здатність аортальних гладеньком'язових препаратів реагувати на аплікацію адреналіну і передсердного натрійуретичного пептиду, що свідчить про роль КТС у регуляції скоротливості аорти (підвищують чутливість до катехоламінів і знижують до передсердного натрійуретичного пептиду). Разом з тим, зниження рівня КТС у крові не змінювало розмір серця і нирок, що свідчить про те, що КТС не бере участь у контролі росту цих тканин, принаймні у щурів [39].

У разі дослідження на собаках і нормотензивних людях зв'язку фізичного навантаження з рівнем КТС було показано [40], що субмаксимальне фізичне навантаження призводить до швидкого збільшення концентрації убаїну у крові в 50–100 разів, а повернення до стану спокою супроводжується її зниженням із часом напівжиття 5–8 хв [40]. Фармакологічний аналіз показав, що такі ефекти пов'язані зі стимуляцією β -адренорецепторів норадреналіном і активацією ренін-ангіотензинової системи (підвищенням рівня ангіотензину II) [41, 42].

Патологічні ефекти КТС

Деякими дослідженнями було показано, що хронічне підвищення концентрації КТС супроводжується розвитком гіпертензії, серцевою і нирковою недостатністю, гіперальдостеронізмом, преєклампсією, порушенням водного і сольового балансу [25, 42–44]. На сьогодні практично доведеним є факт, що ендogenous КТС можна вважати гормонами, які задіяні в регуляції тону судин і артеріального тиску, тому найважливішим наслідком хронічного впливу високого рівня цих речовин є порушення з боку серцево-судинної системи. Дійсно, у людей збільшений рівень ендogenous КТС часто супроводжується підвищеним артеріальним тиском і опором периферійних судин та гіпертрофією лівого шлуночка серця [25]; аналогічні дані є і щодо спонтанно-гіпертензивних щурів [45]. На тваринах *in vivo* доведено, що хронічний вплив низьких доз убаїну (які відповідають підвищеним концентраціям ендogenous убаїну) призводить до розвитку артеріальної

гіпертензії, гіпертрофії та фіброзу міокарда і судин, порушення функції нирок і водно-солевого обміну [25, 46–48].

Окрему проблему становлять випадки розвитку гіпертензії, що індукована вагітністю. Пreeклампсія – головна причина загибелі немовлят і породіль. Ця патологія супроводжується зниженням об'єму циркулюючої крові, підвищенням опору периферійних судин, посиленням скоротливої відповіді судин на норадреналін та ангіотензин II [49]. Показано, що пreeклампсія і цукровий діабет у вагітних супроводжуються системним порушенням функціонування Na^+, K^+ -АТР-ази і підвищенням рівня окремого КТС – марінобуфагеніну. Варто зазначити, що концентрація цього буфадієноліду у крові вагітних у нормі також є дещо підвищеною, але за патологічного протікання вагітності це підвищення значно більше [50].

Припускають, що функції ендогенних КТС у різних тканинах відрізняються, але разом вони створюють сумарний фізіологічний ефект [25]. Чутливість різних ізоформ α -субодиниці до окремих КТС суттєво відрізняється. Так, глікозиди дигоксин, β -метил-дигоксин і дигітоксин у чотири рази більш селективні до α_2 - та α_3 -субодиниць порівняно з α_1 [29]. Також варто відмітити дослідження щодо антагонізму двох найвідоміших інгібіторів Na^+, K^+ -АТР-ази – убаїну (прогіпертензивний) і дигоксину (антигіпертензивний) [51, 28]; так само у разі пролонгованої дії цих речовин на культуру клітин дигоксин і убаїн по-різному змінюють експресію ізоформ Na^+, K^+ -АТР-ази [28]. Припускають, що антигіпертензивна дія дигоксину пояснюється його здатністю спричинити інтерналізацію (ендоцитоз) молекул Na^+, K^+ -АТР-ази в мозку [34].

Трансдукція сигналу КТС через натрієву помпу

На сьогодні існують дві гіпотези, які пояснюють за рахунок яких механізмів ендогенні кардіостероїди зумовлюють специфічні ефекти на серцево-судинну систему. Перша гіпотеза натрієвої затримки (Na^+ -lag hypothesis) розроблена на етапі, коли Na^+, K^+ -АТР-азу вважали виключно іонтранспортальною структурою. Відповідно до цієї гіпотези часткове пригнічення натрієвої помпи серцевими глікозидами зумовлює локальне збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів Na^+ . $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обмінник (НКО) починає працювати у реверсному режимі, як наслідок, підвищується концентрація Ca^{2+} у клітині і виводиться

Na^+ . Зміни в роботі НКО також можуть бути спричинені деполяризацією плазматичної мембрани [52]. Таким чином, підвищення рівня Na^+ є транзйентним [25]. У межах цієї гіпотези, яку підтримував М. Блауштейн із колегами, знаходиться пояснення результатів досліджень, коли за розвитку гіпертензії не спостерігається значного зростання рівня Na^+ у клітині. Передбачається, що збільшення рівня Ca^{2+} у клітині ймовірно відбувається за рахунок існування у плазматичній мембрані гладеньком'язових клітин судинної стінки та нейронів гіпокампа (зокрема, щурів) специфічних протеїнових комплексів – плазмЕРосом (plasmERosome). У цих тканинах Na^+, K^+ -АТР-аза (містить α_2 - і α_3 -субодиниці) дуже близько контактує з НКО (ізоформа 1, НКО1) та ендоплазматичним ретикулумом (ER) [24]. На користь цієї гіпотези свідчать результати експериментів на препаратах артерій щура, за якими Ca^{2+} -транзйенти, спричинені судинозвужуючими агентами (ангіотензином II та адреналіном), посилювалися під час блокування натрієвої помпи убаїном та активації депокерованих Ca^{2+} -каналів; у той же час сумарна концентрація Na^+ залишалася постійною, але могла підвищуватися у локальному просторі плазмЕРосом. Транзйентне зростання Ca^{2+} посилювалося за рахунок Ca^{2+} -індукованого вивільнення із р'анодинчутливого депо або інозитол-1,4,5-трифосфат-зумовленого внаслідок рецепторактивованого (адреналіном або ангіотензином II) синтезу цього вторинного посередника [53–55]. Коли у плазмЕРосомі натрієва помпа не заблокована, НКО1 і Ca^{2+} -помпа викачують Ca^{2+} із клітини. На підтримку гіпотези натрієвої затримки також свідчать результати експериментів, коли в умовах заблокованого НКО пригнічується ефект наномолярних концентрацій убаїну [56, 57]. Разом з тим, ці дані не протирічать іншій гіпотезі, яка привертає значну увагу дослідників в останнє десятиріччя і одержала численні експериментальні підтвердження, – згідно з якою в кавеолах протеїнових комплексів, залучених до регуляції багатьох клітинних процесів, існують сигналосоми [2].

В останні 15 років увага багатьох дослідників прикута до неіонтранспортної, рецепторної ролі натрієвої помпи. Доведено, що функціонально популяцію клітинної Na^+, K^+ -АТР-ази можна поділити на два пули (або мікродомени) – «non-pumping» (нетранспортний пул) та «pumping» (транспортний пул), причому у деяких типах клітин перший становить більше половини загальної популяції [32].

На клітинах серцевого м'яза було показано, що α -субодиниці функціонують як рецептори убаїну [58] і локалізовані в області вп'ячувань плазматичної мембрани — кавеол. Таким чином, молекули «non-pumping» Na^+, K^+ -АТФ-ази розташовуються в кавеолах, тому інша назва «non-pumping» та «pumping» пулів — кавеоларний та сарколемний. У гладеньких м'язах кавеоли збільшують площу плазматичної мембрани у середньому на 80%, а в серцевому м'язі вони займають близько 20% площі мембрани, і саме фракція цих ензимів (30–40% α_1 -субодиниці та 80–90% β -субодиниці) виявляє найбільшу АТФ-азну активність [58].

Кавеоли — фляжкоподібні інвагінації (з діаметром 50–100 нм) плазматичної мембрани клітин, збагачені холестерином, сфінгомієліном та глікофінголіпідами. Ці структури відіграють важливу роль у клітині, регулюючи трансмембранну сигналізацію [59, 60]. Маркерні головні протеїни кавеол — кавеоліни, зокрема, кавеолін-1. Кавеолін-1 — це невеликий протеїн (22 кДа), який один раз перетинає мембрану і має множинні сайти модифікації пальмітиновою кислотою.

У кавеолах молекули Na^+, K^+ -АТФ-ази нетранспортного пулу специфічно взаємодіють з кавеоліном-1, Src, анкерином, спектринами тощо. На основі даних про структуру α_1 -субодиниці помпи припускають, що активаторний та нуклеотидзв'язуючий домени можуть блокуватися за рахунок взаємодії з певними внутрішньоклітинними протеїнами, таким чином, унеможлиблюється виконання класичної функції Na^+, K^+ -АТФ-ази [62]. Показано, що пул кавеоларної натрієвої помпи у разі сприятливих умов (зниження рівня холестеролу, кавеоліну-1 у мембрані) частково переходить у стан, функціонально здатний транспортувати іони. Дослідження на кардіоміоцитах виявили, що розташування молекул Na^+, K^+ -АТФ-ази в кавеолах визначається β -субодиницею ензиму [61]. Цікаво, що коли нетранспортний пул помпи значний, у клітині убаїн переважно виконує каскадну роль, але, коли він виснажений, убаїн інгібує іонний транспорт [62].

Неіонтранспортна функція натрієвої помпи залежить від її взаємодії з певними протеїнами (протеїнкіназами, транспортерами, каналами і рецепторами); вона запускається зв'язуванням з ендо- або екзогенними кардіостероїдами у фізіологічних концентраціях (0,1 нМ). Як наслідок запускаються протеїн- та ліпідкіназні каскади і напрацьовується велика кількість вторинних

месенджерів. На культурі клітин LLC-PK1 показано, що убаїн у концентрації 0,1 нМ активує рецептори «non-pumping» пулу у стехіометрії близько 2 тис. рецепторів на 1 клітину [62].

Сигналосоми — структурно-функціональні протеїнові комплекси, які об'єднують іонтранспортувальні системи ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінник-1, Na^+, K^+ -АТФ-азу, H^+, K^+ -АТФ-азу, Ca^{2+} -АТФ-азу плазматичної мембрани), іонні канали (Ca^{2+} -канали L-типу, Na^+ -канали, ІТР-рецептори і ріанодинові рецептори ендоплазматичного ретикулума), ензими (фосфоліпазу С- γ , NO-синтазу нейронального типу, фосфоінозитол-3'-кіназу, тирозинкіназу Src і протеїнкінази C і B), рихтувальні протеїни (кавеолін, анкерин, фодрін, адуцин), рецептори (епідермального фактора росту та іонотропні) та молекули клітинної адгезії [25, 63]. Ключовою структурою сигналосоми є натрієва помпа (рис. 2). На відміну від плазмемосоми, до складу якої можуть входити комплекси Na^+, K^+ -АТФ-ази з α_2 - і α_3 -субодиницями, сигналосоми формують усі ізоформи α -субодиниць. Зв'язування КТС (ефективними є субнано- і наномольні концентрації) натрієвою помпою сигналосоми слугує пусковим механізмом каскаду внутрішньоклітинного сигналу.

Кавеоларна Na^+, K^+ -АТФ-аза регулює вміст і стабілізацію кавеоліну-1 у плазматичній мембрані клітин та його клітинний трафік [64]. Ця регуляція опосередковується N-кінцевою ділянкою молекули α_1 -субодиниці, яка відповідає за контакт натрієвої помпи з кавеоліном-1. Частковий нокаут Na^+, K^+ -АТФ-ази супроводжується підвищенням активності кінази Src, посиленням ендоцитозу кавеоліну-1 із плазматичної мембрани і, таким чином, зменшенням його кількості та кавеол у мембрані. При цьому, в умовах тривалого існування клітини з нокаутом натрієвої помпи спостерігається перинуклеарне накопичення кавеолін-1-вмісних везикул [64].

На клітинах ендотеліоцитів показано, що контакт кавеоліну-1 та Na^+, K^+ -АТФ-ази регулює вміст холестеролу у плазматичній мембрані [65].

Натрієва помпа відіграє важливу роль у регуляції внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$). Початково вважали, що її блокування кардіостероїдами, у разі терапії серцевої недостатності, забезпечує збільшення $[\text{Ca}^{2+}]_i$, внаслідок індукування реверсної роботи $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обмінника, підвищення рівня Na^+ у клітинах. На сьогодні відомо, що між Na^+, K^+ -АТФ-азою, $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обмінником та

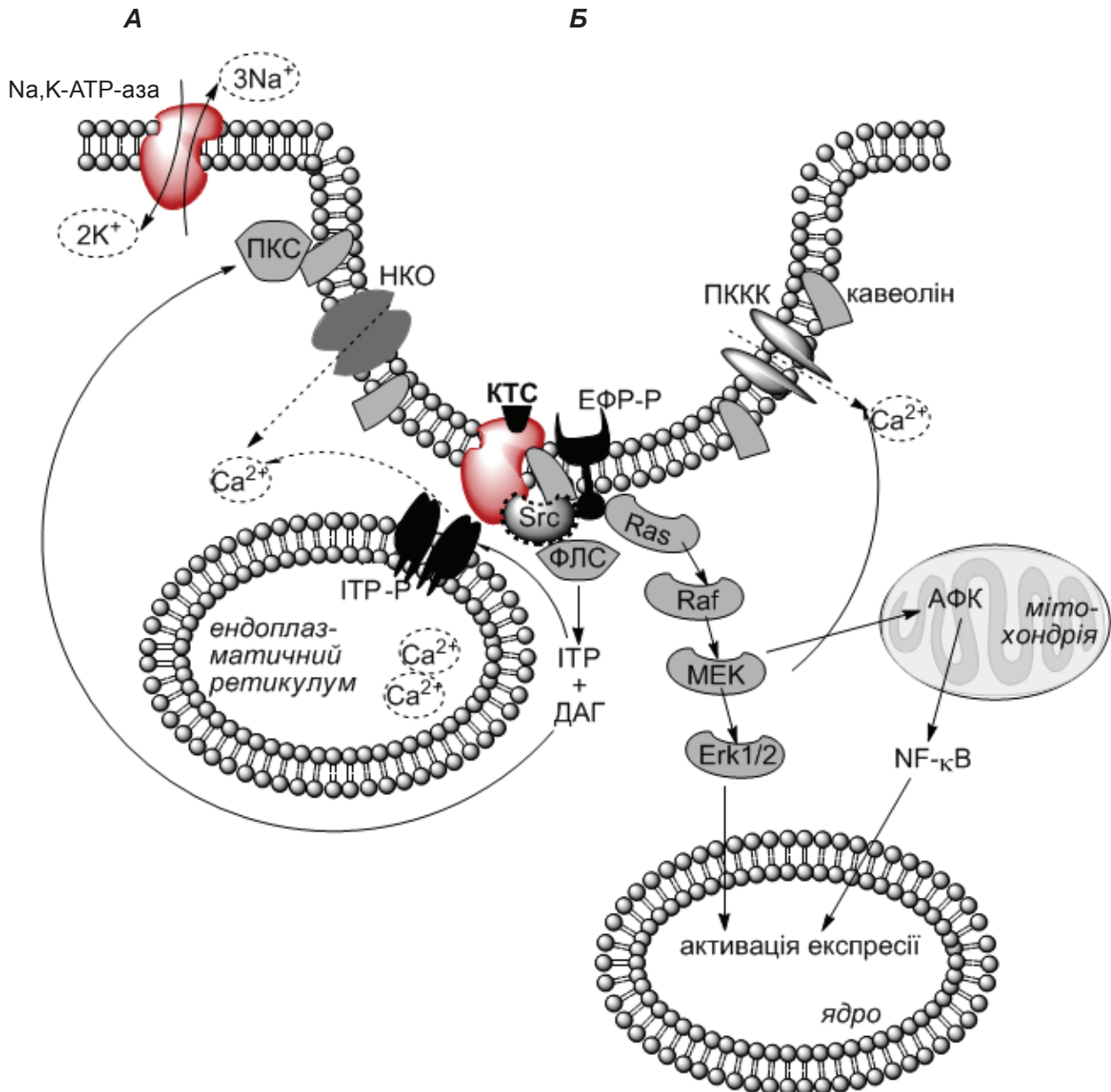


Рис. 2. Схема функціонування натрієвої помпи.

У разі, коли Na^+, K^+ -АТФ-аза не належить до кавеоларного пулу, вона виконує роль іонної помпи (А), здійснюючи транспорт Na^+ і K^+ .

Коли Na^+, K^+ -АТФ-аза розташовується в кавеолі, формується структурно-функціональний сигнальний ланцюг – сигналосома (Б). Зв'язування кардіотонічних стероїдів (КТС) активує декілька внутрішньоклітинних сигнальних ланцюгів. По-перше, вона механічно спряжена з інозитол-1,4,5-трифосфатними рецепторами (ІТР-Р) ендоплазматичного (саркоплазматичного) ретикулума. Також Na^+, K^+ -АТФ-аза контактує з кавеоліном та тирозинкіназою Src, і зв'язування убаїну призводить до активації цього ензиму. Кіназа Src активує фосфоліпазу С_γ (ФЛС) і, таким чином, синтезуються вторинні посередники інозитол-1,4,5-трифосфат (ІТР) і діацилгліцерол (ДАГ). ІТР активує ІТР-Р, а ДАГ стимулює протеїнкіназу С (ПКС). ПКС фосфорилує множинні внутрішньоклітинні мішені, зокрема таким чином активується вхід Ca^{2+} через потенціалкервані Ca^{2+} -канали (ПККК) та $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обмінник (НКО). Фосфорилування кіназою Src рецептора епідермального фактора росту (ЕФР-Р) зумовлює опосередковану адаптером Grb2 (не показано) активацію сигнального каскаду Ras-Raf-МЕК-ERK1/2, яка спричиняє активацію експресії генів в ядрі. Також MAPK-стимульована генерація активних форм кисню (АФК) мітохондріями стимулює транскрипційний фактор NF-κB

ендоплазматичним ретикуломом у багатьох тканинах існує прямий механічний зв'язок [66, 69]. М. Блауштейн із колегами знайшли підтвердження, що фізичний контакт між цими Ca^{2+} -транспортними структурами формує структурно-функціональний комплекс, який одержав назву кальцій-сигнальний мікродомен (calcium-signaling microdomain), властивий, зокрема, для серцевого і гладеньких м'язів [66]. Ці дослідники припустили, що у формуванні такої функціональної структури беруть участь окремі ізоформи α -субодиниці Na^+, K^+ -АТФ-ази (α_2 і α_3 , але не α_1), а збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} запускається зв'язуванням натрієвої помпи з убаїном. Наступні експерименти виявили, що α_1 -субодиниця також здатна брати участь у формуванні кальцій-сигнального мікродомену [67]. Формування механічного контакту між Na^+, K^+ -АТФ-азою та $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обмінником обумовлено такими молекулярними властивостями цих протеїнів: молекула НКО1 має позаклітинний N-кінець, внутрішньоклітинний C-кінець та дев'ять разів перетинає плазматичну мембрану. Амфіпатична амінокислотна ділянка в цитоплазматичній ділянці 5-го трансмембранного фрагмента слугує важливим сенсором Na^+ та кислих фосфоліпідів [68]. Спричинене убаїном зростання внутрішньоклітинного рівня Na^+ поблизу кальцій-сигнального мікродомену може стимулювати і потім інактивувати НКО [69].

У кардіоміоцитах сигнал від Na^+, K^+ -АТФ-ази передається на Na^+ -канали, активуючи їх і забезпечуючи деполяризацію мембрани та вхід Ca^{2+} .

Як згадувалося вище, в кавеолах молекули Na^+, K^+ -АТФ-ази взаємодіють із Src. Зв'язування убаїну з α -субодиницею помпи цього пулу призводить до активації тирозинкінази, що підвищує рівень фосфорилування тирозинних залишків [70]. Однією з мішеней фосфорилування є, зокрема, рецептор епідермального фактора росту, через який активується Ras/ERK сигнальний каскад. Інша мішень активованого убаїном комплексу – фосфоліпаза C- γ . Зв'язок між натрієвою помпою і фосфоліпазою C- γ пояснює стимульоване КТС формування ІТР і діацилгліцеролу (ДАГ); далі ІТР посилює вивільнення Ca^{2+} з депо, а стимульована ДАГ протеїнкіназа С (ПКС) активує Ca^{2+} -канали L-типу, НКО і додатково пригнічує Na^+, K^+ -АТФ-азу. Так, низкою досліджень на епітелії ниркових каналців, гладеньком'язових клітинах та кардіоміоцитах доведено передачу

сигналу: Na^+, K^+ -АТФ-аза/PLC-1 / ІТР-рецептор [71–74]. Було показано, що блокування Src або фосфоліпази С цим протеїновим комплексом, відіграє дійсно важливу роль в ІТР-залежному вивільненні Ca^{2+} і формуванні Ca^{2+} -осциляцій [74]. Також варта уваги гіпотеза, яка базується на припущенні, що КТС, зв'язуючись з кавеоларною Na^+, K^+ -АТФ-азою, здатні сенситизувати рецептори до ІТР [71]. Таким чином, можна пояснити, чому фізіологічна концентрація КТС зумовлює осциляції внутрішньоклітинної $[\text{Ca}^{2+}]_i$, а патологічна – постійне підвищення рівня Ca^{2+} .

Один із ключових контактів між натрієвою помпою і сигналосомним оточенням є протеїн-протеїнова взаємодія між SH2-доменом кінази Src і першою внутрішньоклітинною петлею α -субодиниці [75]. За відсутності убаїну такий контакт інгібує Src. Зв'язування КТС Na^+, K^+ -АТФ-азою спричиняє від'єднання тирозинкінази, яка набуває здатності фосфорилувати протеїни-мішені. Специфічне фосфорилування рецептора епідермального фактора росту зумовлює Grb2-опосередковану активацію сигнального каскаду Ras-Raf-МЕК-ERK. Активація MAPK, зокрема, стимулює відкриття мітохондріальних АТФ-чутливих K^+ -каналів і генерацію активних форм кисню, крім того ERK1/2 контролює експресію Na^+, K^+ -АТФ-ази. В умовах нокауту α_1 -субодиниці Na^+, K^+ -АТФ-ази спостерігається підвищення базальної активності Src і ERK1/2 [65].

Інший шлях, яким блокування кавеоларної Na^+, K^+ -АТФ-ази може зумовлювати підвищення $[\text{Ca}^{2+}]_i$, є активація сигналу через ланку Src – рецептор епідермального фактора росту. Таким чином, запускається сигнальний каскад: Ras – МЕК – ERK1/2, який забезпечує активацію фосфорилуванням Ca^{2+} -каналів і НКО [25, 63].

Підтверджено також механічний зв'язок між натрієвою помпою і ІТР-рецепторами CP [76, 67]. У випадку, коли плазматична мембрана і CP розміщені на невеликій відстані (10–25 нм), між N-кінцевими частинами молекул α -субодиниці натрієвої помпи та ІТР-рецептора встановлюється контакт (ізоформоспецифічний) [69]. Зв'язування убаїну з Na^+, K^+ -АТФ-азою у цьому разі призводить до появи Ca^{2+} -осциляцій з періодичністю 4–5 хв, які слугують (зокрема в нирках) для активації сигнального шляху NF- κ B (транскрипційний фактор, залучений до процесів росту, диференціації, розвитку запальної відповіді та інгібування апоптозу) і, таким чином, здійснюється антиапоптичний захист [69].

Осциляції $[Ca^{2+}]_i$ не тільки обумовлюють позитивний інотропний ефект у клітинах серцевого м'яза, але також можуть розглядатися як регулятори внутрішньоклітинних процесів вибору між проліферацією, функціонуванням і апоптозом. Як уже було зазначено вище, у разі кальцієвих осциляцій з низькою частотою посилюється ефективність експресії генів і біосинтезу, опосередкована активацією ПКС і NF- κ B. У такий спосіб, фізіологічні концентрації КТС обумовлюють низькочастотні осциляції $[Ca^{2+}]_i$, забезпечуючи антиапоптичний ефект. За даними літератури антиапоптична дія убаїну опосередковується протеїнкіназою В, яка інактивує апоптичний протеїн Bid його шляхом фосфорилування. Підвищені концентрації КТС зумовлюють тривале зростання $[Ca^{2+}]_i$ і активують апоптоз [25].

Сигнальний шлях, асоційований із Src- і Ras-опосередкованою (Ca^{2+} , Ca^{2+} -кальмодулін і ПКС-залежною) активацією p42/44 MAPK, пов'язаний з гіпертрофією, зокрема, серцевого м'яза [25, 77–79]. Таким чином, здійснюється активація експресії генів ранньої відповіді c-fos і c-jun, що регулюють фактори росту, мітогени та гормони [28].

Сигналомна Na^+, K^+ -АТФ-аза здатна також активувати проліферацію, що спричинює Ca^{2+} -залежне фосфорилування і активацію протеїнкінази В (ПКВ) [25]. ПКВ-опосередкований шлях забезпечує вклад у розвиток убаїн-спричиненої гіпертрофії міокарда. Підтвердженням цього передбачення є експерименти із ПКВ1-нокаутними мишами, у яких спостерігалось зниження маси тіла і дисфункція серцевого м'яза.

КТС є вельми перспективними у галузі розробки протипухлинної терапії. Вони селективно зумовлюють апоптоз у клітинах пухлин (IC_{50} варіює в межах від 50 до 100 нмоль/л) і не пошкоджують нормальні клітини. Показано, що індукція апоптозу в малігнізованих клітинах опосередковується Src/MAPK-сигнальним шляхом і супроводжується пригніченням синтезу мутантного протеїну p53 [80]. На культурі клітин гепатокарциноми людини було показано, що буфалін і цінобуфагін, які мають широкий спектр проапоптичної активності щодо клітин пухлин, зумовлюють клітинну загибель мітохондрія- і Fas-опосередкованими шляхами, а також Fas-опосередкованим каспаза-10-залежним шляхом. При цьому ці буфанодієноліди активують експресію проапоптичних генів Fas, Вах

і Bid, пригнічують експресію антиапоптичного гену Bcl-2, а також спричинюють порушення потенціалу мітохондрій [81]. На клітинах раку шлунка було показано, що буфалін у низьких концентраціях (20 нмоль/л) спричиняє зупинку клітинного циклу в М-фазі, тоді як у високих концентраціях (80 нмоль/л) – індукує апоптоз через фосфатидилінозитол-3-кіназа/ПКВ-сигнальний шлях [82]. Загалом, КТС, і особливо, буфадієноліди виявляють апоптичну активність проти пухлин різного походження (підтверджено як в умовах *in vitro*, так і *in vivo*), що робить їх дослідження в галузі онкотерапії надзвичайно перспективними [25, 83–85].

Контакт Na^+, K^+ -АТФ-ази з кавеоліном, опосередковує активацію каскаду Ras-Raf-ERK. Таким чином, забезпечується посилення проліферації клітин та гіпертрофії тканин (принаймні серцевого м'яза і ниркового епітелію). Взаємодія натрієвої помпи з кавеоліном також опосередковує убаїнзумовлений клатринзалежний ендцитоз [86, 87].

Треба зазначити, що ймовірними учасниками кавеолярних комплексів є також рецептори нейромедіаторів, зокрема, пурино-рецептори, мускаринові холінорецептори M1, брадикінінові рецептори B2. Підтвердженням цьому були експерименти, в яких нокаутність Na^+, K^+ -АТФ-ази супроводжувалася значним послабленням ІТР-залежного збільшення рівня Ca^{2+} в цитоплазмі [67].

За участю Src і ERK1/2 Na^+, K^+ -АТФ-аза регулює клітинну адгезію (взаємодії «клітина–клітина» і «клітина–міжклітинний матрикс») [88]. Експерименти на клітинах нирок показали, що тривала дія убаїну зумовлює MAPK- і Ca^{2+} -опосередковане порушення адгезивних властивостей. Разом із тим, в епітеліальних клітинах КТС посилює міжклітинні контакти, активуючи експресію конексину 32.

Отже, Na^+, K^+ -АТФ-аза є одним із ключових протеїнових комплексів клітини, роль якого не обмежується підтриманням іонного гомеостазу і трансмембранного потенціалу. Не викликає сумнівів зв'язок цього ензиму із множинними внутрішньоклітинними сигнальними процесами, які забезпечують, зокрема, регуляцію кровообігу та підтримання водно-сольового гомеостазу. Ендогенні кардіостероїди на сьогодні визнані гормонами і їхній баланс забезпечує виконання сигнальної функції натрієвою помпою.

Na⁺, K⁺-АТФ-аза, ЭНДОГЕННЫЕ КАРДИОТОНИЧЕСКИЕ СТЕРОИДЫ И ИХ ТРАНСДУКТОРНАЯ РОЛЬ

О. В. Цимбалюк¹, С. А. Костерин²

¹Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко, Украина;

²Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: otsimbal@univ.kiev.ua

Na⁺, K⁺-АТФ-аза — протеиновый комплекс плазматической мембраны, который выполняет двойную функцию: во-первых, поддерживает гомеостаз ионов Na⁺ и K⁺, а также трансмембранный градиент потенциала и, во-вторых, служит трансдуктором сигналов и регулятором экспрессии многих ключевых генов. Роль сигнальных молекул играют эндогенные кардиотонические стероиды, которые синтезируются в надпочечниках и гипоталамусе. В обзоре рассматриваются современные представления о механизмах реализации сигнальной функции Na⁺, K⁺-АТФ-азы и их связь с регуляцией клеточных функций, апоптозом, а также с патологиями сердечно-сосудистой системы и водно-солевого гомеостаза.

Ключевые слова: Na⁺, K⁺-АТФ-аза, эндогенные кардиостероиды, сигналосома, трансдукция сигнала.

Na⁺, K⁺-ATPase, ENDOGENOUS CARDIOTONIC STEROIDS AND THEIR TRANSDUCING ROLE

O. V. Tsybalyuk¹, S. O. Kosterin²

¹Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;

²Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Science of Ukraine, Kyiv;
e-mail: otsimbal@univ.kiev.ua

Summary

Na⁺, K⁺-ATPase — a protein complex of plasmatic membrane, which performs the dual function: firstly, it supports the Na⁺ and K⁺ homeostasis, and also transmembrane potential gradient, secondly, it serves as the transducer of signals and as the regulator of the expression of many key genes. Endogenous cardiotonic steroids, which are synthesized in the adrenal glands and hypothalamus, serve as the signal molecules. New concepts about the mechanisms of the realization of the Na⁺, K⁺-ATPase signal function and their connection with cellular functions, apoptosis, and with pathologies of cardiovascular system and water-salt homeostasis are described in the survey.

Key words: Na⁺, K⁺-ATPase, endogenous cardiotonic steroids, signalosome, signal transduction.

1. Skou J. C. // *Biochim. Biophys. Acta* — 1957. — **23**. — P. 394–401.
2. Xie Z., Cai T. // *Mol. Interv.* — 2003. — **3**, N 3. — P. 157–168.
3. Horisberger J.-D. // *Physiology*. — 2004. — **19**. — P. 377–387
4. Takeuchi A., Reyes N., Artigas P., Gadsby D. C. // *Channels*. — 2009. — **3**, N 6. — P. 383–386.
5. Price E. M., Lingrel J. B. // *Biochemistry*. — 1988. — **27**, N 22. — P. 8400–8408.
6. Lingrel J. B. // *Annu. Rev. Physiol.* — 2010. — **17**, N 72. — P. 395–412.
7. Price E. M., Rice D. A., Lingrel J. B. // *J. Biol. Chem.* — 1989. — **264**, N 36. — P. 21902–21906.
8. Price E. M., Rice D. A., Lingrel J. B. // *Ibid.* — 1990. — **265**, N 12. — P. 6638–6641.
9. Price E. M., Rice D. A., Lingrel J. B. et al. // *Ibid.* — 1996. — **271**, N 24. — P. 14176–14182.
10. Middleton D. A., Rankin S., Esmann M., Watts A. // *PNAS*. — 2000. — **97**, N 25. — P. 13602–13607.
11. Qiu L. Y., Koenderink J. B., Swarts H. G. P. et al. // *J. Biol. Chem.* — 2003. — **278**, N 47. — P. 47240–47244.
12. Canessa C. M., Horisberger J.-D., Rossier B. C. // *Ibid.* — 1993. — **268**, N 24. — P. 17722–17726.
13. Vasilets L. A., Takeda K., Kawamura M., Schwarz W. // *Biochim. Biophys. Acta*. — 1998. — **1368**, N 1. — P. 137–149.
14. Ogawaa H., Shinodaa T., Corneliusb F. et al. // *PNAS*. — 2009. — **106**, N 33. — P. 13742–13747.
15. Geering K. // *J. Bioenerg. Biomembr.* — 2001. — **33**, N 5. — P. 425–438.
16. Beguin P., Wang X., Firsov D. et al. // *The EMBO Journal*. — 1997. — **16**, N 14. — P. 4250–4260.
17. Scheiner-Bobis G. // *Eur. J. Biochem.* — 2002. — **269**. — P. 2424–2433.
18. Geering K. // *Am. J. Physiol.: Renal Physiol.* — 2006. — **290**. — P. F241–F250.
19. Dostanic-Larson I., Lorenz J., Van Huysse J. et al. // *Am. J. Physiol.: Regul. Integr. Comp. Physiol.* — 2006. — **290**. — P. R524–R528.
20. Lingrel J., Williams M., Vorhees C., Moseley A. // *J. Bioenerg. Biomembr.* — 2007. — **39**. — P. 385–389.
21. Wang Sh., Farley R. // *J. Biol. Chem.* — 1998. — **273**, N 6. — P. 29400–29405.
22. Blanco G., Mercer R. // *Am. J. Physiol.: Renal Physiol.* — 1998. — **275**, N 44. — P. F633–F650.
23. Eakle K., Kabalin M., Wang Sh., Farley R. // *J. Biol. Chem.* — 1994. — **269**, N 4. — P. 6550–6557.

24. *Blaustein M., Zhang J., Chen L. et al.* // Hypertension. – 2009. – **53**. – P. 291–298.
25. *Schoner W., Scheiner-Bobis G.* // Am. J. Physiol.: Cell. Physiol. – 2007. – **293**. – P. C509–C536.
26. *Tymiak A., Norman J., Bolgar M. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. – **90**. – P. 8189–8193.
27. *Wang Z., Wen J., Zhang J. et al.* // Biomed. Chromatogr. – 2004. – **18**, N 5. – P. 318–322.
28. *Schoner W.* // Eur. J. Biochem. – 2002. – **269**. – P. 2440–2448.
29. *Katz A., Lifshitz Y., Bab-Dinitz E. et al.* // J. Biol. Chem. – 2010. – **285**, N 25. – P. 19582–19592.
30. *Hauck C., Potter T., Bartz M. et al.* // Eur. J. Pharmacol. – 2009. – **622**, N 1–3. – P. 7–14.
31. *Hamlyn J., Blaustein M., Bova S. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1991. – **88**. – P. 6259–6263.
32. *Ferrari P., Ferrandi M., Valentini G., Bianchi G.* // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2006. – **290**. – P. R529–R535.
33. *Kawamura A., Guo J., Itagaki Y. et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1999. – **96**. – P. 6654–6659.
34. *Schoner W., Scheiner-Bobis G.* // Nephrol. Dial. Transplant. – 2008. – **23**. – P. 2723–2729.
35. *Fedorova O., Shapiro J., Bagrov A.* // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – **1802**, N 12. – P. 230–236.
36. *Fedorova O., Talan M., Agalakova N. et al.* // Circulation. – 2002. – **105**. – P. 1122–1127.
37. *Fedorova O., Agalakova N., Talan M. et al.* // J. Hypertens. – 2005. – **23**, N 8. – P. 1515–1523.
38. *Fedorova O., Zhuravin I., Agalakova N. et al.* // Ibid. – 2007. – **25**, N 9. – P. 1834–1844.
39. *Nesher M., Dvela M., Igbokwe V. et al.* // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2009. – **297**. – P. H2026–H2034.
40. *Bauer N., Müller-Ehmsen J., Krämer U. et al.* // Hypertension. – 2005. – **45**. – P. 1024–1102.
41. *Dmitrieva R., Doris P.* // Exp. Biol. Med. – 2002. – **227**, N 8. – P. 561–569.
42. *Kaplan J.* // PNAS. – 2005. – **102**, N 44. – P. 15723–15724.
43. *Lorenz J., Loreaux E., Dostanic-Larson I. et al.* // Am. J. Physiol.: Heart. Circ. Physiol. – 2008. – **295**. – P. H273–H280.
44. *Yuan C., Manunta P., Hamlyn J. et al.* // Hypertension. – 1993. – **22**. – P. 178–187.
45. *Wauquier I., Pernollet M.-G., Grichois M.-L. et al.* // Ibid. – 1988. – **12**. – P. 108–116.
46. *Tian G., Dang C., Lu Z. et al.* // Hypertens. Res. – 2001. – **24**. – P. 729–734.
47. *Huang B., Veerasingham S., Leenen F.* // Am. J. Physiol.: Heart. Circ. Physiol. – 1998. – **274**. – P. 1269–1276.
48. *Rossoni L., Salaices M., Maröan J. et al.* // Br. J. Pharmacol. – 2002. – **135**. – P. 771–781.
49. *Miyagi H., Higuchi M., Nakayama M. et al.* // Japan. J. Pharmacol. – 1991. – **57**. – P. 571–581.
50. *Bagrov Y., Manusova N., Frolova E. et al.* // Pathophysiology. – 2007. – **14**, N 3–4. – P. 147–151.
51. *Kimura K., Manunta P., Hamilton B. P., Hamlyn J. M.* // Hypertens Res. – 2000. – **23**. – P. S67–S76.
52. *Kappl M., Nagel G., Hartung K.* // Biophys. J. – 2001. – **81**. – P. 2628–2638.
53. *Reuter H., Pott C., Goldhaber J. et al.* // Cardiovasc. Res. – 2005. – **67**, N 2. – P. 198–207.
54. *Arnon A., Hamlyn J., Blaustein M.* // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2000. – **278**, N 1. – P. C163–C173.
55. *Bers D., Despa S.* // Trends. Cardiovasc. Med. – 2009. – **19**, N 4. – P. 111–118.
56. *Iwamoto T., Kita S., Zhang J. et al.* // Nat. Med. – 2004. – **10**, N 11. – P. 1193–1199.
57. *Zhang J., Ren C., Chen L. et al.* // Am. J. Physiol.: Heart. Circ. Physiol. – 2010. – **298**. – P. H1472–H1483.
58. *Liu L., Askari A.* // Am. J. Physiol.: Cell. Physiol. – 2006. – **291**. – P. C569–C578.
59. *Sarnataro D., Caputo A., Casanova P. et al.* // Plos one. – 2009. – **4**, N 6. – P. 1–15.
60. *Chidlow J., Sessa W.* // Cardiovasc. Res. – 2010. – **86**. – P. 219–225.
61. *Liu L., Askari A.* // Am. J. Physiol.: Cell. Physiol. – 2006. – **291**. – P. C569–C578.
62. *Liang M., Tian J., Liu L. et al.* // J. Biol. Chem. – 2007. – **282**, N 14. – P. 10585–10593.
63. *Wasserstrom I J., Aistrup G.* // Am. J. Physiol.: Heart. Circ. Physiol. – 2005. – **289**. – P. H1781–H1793.
64. *Cai T., Wang H., Chen Y. et al.* // J. Cell. Biol. – 2008. – **182**, N 6. – P. 1153–1169.
65. *Chen Y., Cai T., Wang H. et al.* // J. Biol. Chem. – 2009. – **284**, N 22. – P. 14881–14890.
66. *Moore E., Etter E., Philipson K. et al.* // Nature. – 1993. – **365**. – P. 657–660.
67. *Dostanic I., Schultz J., Lorenz J., Lingrel J.* // J. Biol. Chem. – 2004. – **279**. – P. 54053–54061.
68. *DiPolo R., Beauge L.* // Physiol. Rev. – 2006. – **86**. – P. 155–203.
69. *Tian J., Xie Z.* // Physiology. – 2008. – **23**. – P. 205–211.
70. *Chen Y., Cai T., Yang C. et al.* // J. Biol. Chem. – 2008. – **283**, N 2. – P. 1128–1136.
71. *Yuan Z., Cai T., Tian J. et al.* // Mol. Biol. Cell. – 2005. – **16**. – P. 4034–4045.
72. *Moore E., Etter E., Philipson K. et al.* // Nature. – 1993. – **365**. – P. 657–660.

73. Liu J., Tian J., Haas M. et al. // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, N 36. – P. 27838–27844.
74. Yuan Z., Cai T., Tian J. et al. // Mol. Biol. Cell. – 2005. – **16**. – P. 4034–4045.
75. Li Z., Cai T., Tian J. et al. // J. Biol. Chem. – 2009. – **284**, N 31. – P. 21066–21076.
76. Miyakawa-Naito A., Uhle'n P., La M. et al. // Ibid. – 2003. – **278**, N 50. – P. 50355–50361.
77. Kometiani P., Li J., Gnudi L. et al. // Ibid. – 1998. – **273**, N 24. – P. 15249–15256.
78. Haas M., Askari A., Xie Z. // Ibid. – 2000. – **275**, N 36. – P. 27832–27837.
79. Aydemir-Koksoy A., Abramowitz J., Allen J. // Ibid. – 2001. – **276**, N 49. – P. 46605–46611.
80. Wang, Z., Zheng M., Li Z. et al. // Cancer. Res. – 2009. – **69**, N 16. – P. 6556–6564.
81. Qi F., Inagaki Y., Gao B. et al. // Cancer. Sci. – 2011. – **102**, N 5. – P. 951–958.
82. Li D., Qu X., Hou K. et al. // Anticancer Drugs. – 2009. – **20**, N 1. – P. 59–64.
83. Han K., Huang G., Gu W. et al. // World J. Gastroenterol. – 2007. – **13**, N 24. – P. 3374–3379.
84. Nasu K., Nishida M., Ueda T. et al. // Mol. Human Reprod. – 2005. – **11**, N 11. – P. 817–823.
85. Takai N., Ueda T., Nishida M. et al. // Int. J. Mol. Med. – 2008. – **21**, N 5. – P. 637–643.
86. Liu J., Kesiry R., Periyasamy S. et al. // Kidney Intern. – 2004. – **66**. – P. 227–241.
87. Liu J., Shapiro J. // Pathophysiol. – 2007. – **14**, N 3–4. – P. 171–181.
88. Larre I., Cerejido M. // Commun. Integr. Biol. – 2010. – **3**, N 6. – P. 625–628.

Отримано 05.07.2011